

Calidad nutritiva de láminas de *Chloris gayana* en estado vegetativo. Efecto de la reducción del tamaño foliar y envejecimiento

R. E. Avila¹, O. Di Marco, y M. Agnusdei

INTA EEA Balcarce, Argentina
Recibido Junio 20, 2010. Aceptado Mayo 23, 2011.

Nutritive quality of *Chloris gayana* leaf blades in vegetative stage. Effect of leaf size reduction and ageing

ABSTRACT. The indigestible fiber that accumulates with increasing leaf biomass affects dry matter digestibility (DMD) and voluntary intake of forages. This study sought to evaluate accumulation of neutral detergent fiber (NDF), indigestible NDF (iNDF), and apparent DMD *in vitro* of leaf blade of two sizes (*long*, *L* and *short*, *S*) of *Chloris gayana* K. cv. Finecut, with the aim of determining whether the accumulation of NDF or iNDF is dependent on leaf size. Two phases of a greenhouse experiment were conducted in 2008. In the first, three seeded microswards in 1 x 3.5 x 3 m, divided in two, were submitted to two different defoliation intensities for 33 d (24/01 to 26/02) to obtain plants of the two leaf blade sizes. In phase two, herbage grown for 40 d (27/02 to 7/04) at a mean ambient temperature of 24 ± 3°C was used to harvest about 200 shoots at different life stages at intervals following 58 ± 22 degree-days of growth (DDG). Base temperature for calculating leaf age (expressed as (DDG) was 12°C. Harvested material was frozen immediately (liquid N₂) and stored for subsequent analysis. After thawing, blades were grouped by three successive leaf generations (G1, G2, and G3) and six age categories: two of early growth, one recently expanded with visible ligulae, and three at presenesence adult maturity stages. Blade and sheath length were determined in all samples, whereas additional criteria, including NDF and 24-h *in vitro* incubation to estimate residual iNDF (iNDFr), were used with samples of the last four age categories. The iNDF value was calculated as iNDFr/NDF and DMD as the difference between incubated DM and iNDFr, minus a metabolic factor of 119 mg/kg. The experimental design was split plots in completely randomized blocks (n = 3); principal plots were leaf size (n = 2) and subplots were leaf generation (n = 3). Relationships between NDF, iNDF, and DMD and age (DDG) specific leaf area (SLA) and leaf length were analyzed by linear regression. Defoliation decreased the maximum leaf length by 32% (885 ± 17 to 606 ± 15 mm) and SLA by 20% (102 ± 7 to 83 ± 8 cm²/g). Reduced leaf length was accompanied by reductions (P < 0.0001) of 3% in NDF content and 13% in iNDF and an increase of 10% in DMD. Variability in iNDF was more closely correlated with leaf length (R² = 0.62) than with SLA (R² = 0.53). Both variables explained a similar proportion of DMD variability (R² = 0.45) and were not associated with NDF content. Ageing of leaf blades exerted different effects in each treatment. In S it was unrelated to NDF, iNDF, and DMD, but in L it was associated with 8% increased iNDF and 6% decreased DMB, absent an effect on NDF content. Conclusions were: (1) a reduction in leaf length increased the nutritive value of adult leaf blades of *Chloris gayana*; (2) the improved quality of shorter leaf blades was unaffected by ageing; (3) variability in quality was more clearly associated with leaf length than with ageing.

Key words: *Chloris gayana*, DMD, iNDF, Leaf ageing, Leaf size, NDF

RESUMEN. La fibra indigestible que se acumula al aumentar la biomasa foliar afecta la digestibilidad de la materia seca (MS) y el consumo voluntario de forraje. Este estudio enfoca la acumulación de fibra en detergente neutro (FDN), FDN indigestible (FDNi) y digestibilidad *in vitro* de la MS (DMS) en láminas foliares de *Chloris gayana* K. cv. Finecut de dos longitudes distintas. El objetivo fue demostrar si el contenido de FDN o FDNi es afectado por el largo foliar. El experimento se realizó en invernadero durante

¹Autor para la correspondencia, e-mail: ravila@correo.inta.gov.ar

el año 2008 y constó de dos fases consecutivas. En la primera, tres micropasturas (bateas de 1 x 3.5 x 3 m) se sometieron a dos regímenes de defoliación de 33 d (desde el 24/01 al 26/02) para obtener plantas con dos tamaños de láminas foliares: cortas (C) y largas (L). En la segunda etapa, las pasturas se dejaron crecer durante 40 d (desde el 27/02 al 7/04) a una temperatura media de 24 ± 3 °C y se cosecharon aproximadamente 200 macollos luego de intervalos de 58 ± 22 grados días de crecimiento (GDC) en distintos puntos de la vida foliar, previo a la senescencia, que resultó en ocho cosechas. La temperatura base para calcular la edad (expresada en GDC) fue 12°C. El material cosechado se congeló inmediatamente (N₂ líquido) para su análisis posterior. Luego de descongelar, se separaron las láminas de tres generaciones sucesivas de hojas (G1, G2 y G3) de seis categorías de edad: 2 en crecimiento, 1 recién expandida o con ligua y 3 adultas en progresivos grados de madurez. En muestras de todas las categorías se determinó largo de lámina y de vaina, mientras en las últimas cuatro se incluyeron criterios adicionales como contenido de FDN y, luego de incubado por 24 h *in vitro*, el residuo de FDN indigestible (rFDNi). Se calculó la FDNi como el cociente rFDNi/FDN, y la DMS como la diferencia entre la MS incubada y el rFDNi, menos un factor metabólico de 119 mg/kg. El diseño estadístico consistió de parcelas divididas en bloques completos al azar (n = 3). La parcela principal fue el tamaño foliar (n = 2) y las subparcelas, las generaciones de hoja (n = 3). Las relaciones entre NDF, NDFi y DMS y edad (DDG), área foliar específica y longitud de hoja se analizaron por regresión lineal. La defoliación redujo el largo máximo de las hojas en 32%, de 885 ± 17 a 606 ± 18 mm, y el área foliar específica en 20%, de 102 ± 7 a 83 ± 8 cm²/g. La reducción del largo foliar se asoció con reducciones ($P < 0.0001$) de 3% en FDN y 13% en NDFi y un aumento de 10% en MSD. La variación en NDFi, se correlacionó mejor con largo de hoja ($R^2 = 0.62$) que con el área foliar específica ($R^2 = 0.53$). Ambas variables explicaron proporciones semejantes de variabilidad en DMS ($R^2 = 0.45$) y no se asociaron con contenido NDF. El envejecimiento de las láminas tuvo un efecto diferente en cada tratamiento. En S no se detectaron cambios en FDN, FDNi y DMS, mientras en L, FDNi aumentó por 8% y MSD decreció por 6%, no habiendo efecto sobre FDN. Se concluye: 1) al disminuir el largo foliar mejoró la calidad nutritiva de las láminas adultas de *Chloris gayana*; 2) la calidad de las láminas de menor longitud no fue afectada por el envejecimiento; y 3) las variaciones de calidad estuvieron más asociadas al largo foliar que al envejecimiento de la lámina.

Palabras clave: *Chloris gayana*, DMS, Envejecimiento, FDN, Largo foliar, NDFi

Introducción

En pasturas en estado vegetativo, la pérdida de calidad del forraje puede atribuirse a dos procesos altamente relacionados entre sí. El primero, está asociado a los cambios en la composición química de la fibra que tiene lugar durante todo el ciclo vitalicio de las hojas y los cuales reducen su digestibilidad, esto es llamado "envejecimiento" (Akin y Chesson, 1989; Engels y Schuurmans, 1992; Wilson, 1994; Groot y Neuteboom, 1997; Grabber, 2005). El segundo, es la adición de segmentos menos digestibles que ocurre al acumularse la biomasa (Wilson, 1976).

La disminución de la digestibilidad en láminas sucesivas fue asociada por Groot y Neuteboom (1997) a un incremento en la duración del crecimiento de la hoja dentro del tubo de vainas de mayor longitud, mientras que Duru y Ducroq (2002) señalaron que el incremento de la longitud de las láminas sucesivas sería el determinante de una menor digestibilidad. En este contexto, Agnudei et al. (2009) y Avila et al. (2010) mostraron en distintas

gramíneas megatérmicas de diferente tamaño potencial de lámina (*Chloris gayana*, *Digitaria decumbens* y *Cenchrus ciliaris*), que los cambios en calidad del forraje estuvieron más asociados al largo foliar que al envejecimiento. En dichos trabajos se observó que las especies con mayor largo foliar presentaron un mayor contenido de FDN y FDNi y una menor digestibilidad de materia seca (MS). Sin embargo, se desconoce si en una misma especie forrajera, es posible atenuar la contribución de los tejidos de sostén, y con ello, mejorar la calidad mediante la reducción del tamaño foliar.

En gramíneas el tamaño potencial de la lámina es una característica determinada genéticamente, sin embargo debido a su alta plasticidad morfológica es posible modificarlo mediante prácticas de manejo (Lemaire y Chapman, 1996). La defoliación es una herramienta de manejo que permitiría modificar el tamaño de las láminas y con ello la calidad del forraje. Con relación a lo mencionado, se ha observado que pasturas sometidas a pastoreo severo

o defoliación frecuente, presentaron láminas y vainas más cortas y valores más altos de digestibilidad respecto a pasturas manejadas con una defoliación menos frecuente o un pastoreo liviano (Duru *et al.*, 1999; Duru y Ducroq, 2002; Pascuet, 2003).

El mecanismo por el cual la defoliación permite reducir el tamaño de lámina formada posterior al corte, es por modificación del largo del tubo de vainas. Según señalan distintos autores (Wilson, 1976; Skinner y Nelson 1995; Groot y Neuteboom, 1997; Duru y Ducroq, 2000) el tubo de vainas ejerce un efecto morfogénico sobre el largo de láminas sucesivas. En distintos trabajos (Casey *et al.*, 1999; Arredondo y Schnyder, 2003; Kavanová *et al.*, 2006), se encontró que el largo del tubo de vainas estuvo altamente relacionado a la longitud de la zona de crecimiento de la hoja, la cual influye principalmente en la tasa de elongación foliar (TEF), sin provocar cambios en la duración de la

elongación, tal como ha sido sostenido por algunos autores (Wilson y Laidlaw, 1985; Duru *et al.* 1999; Duru y Ducroq, 2000). Por lo tanto, un acortamiento del tubo de vainas modificaría la longitud de las láminas por disminución de la TEF.

En este marco conceptual se llevó a cabo el presente experimento con la hipótesis de que láminas de menor tamaño logradas mediante defoliación presentarán menor contenido de FDN y FDNi en la biomasa y mayor digestibilidad de MS. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue obtener mediante la aplicación de diferentes regímenes de defoliación en una misma especie, plantas con diferente tamaño foliar y estudiar la evolución del contenido de FDN, FDNi y digestibilidad *in vitro* de la MS en las láminas de generaciones sucesivas formadas después del corte. Se seleccionó para este estudio la especie *C. gayana* cv. Finecut por ser un morfotipo forrajero de tamaño foliar grande.

Materiales y Métodos

Se implantaron pasturas de *C. gayana* cv. Finecut en tres bateas de 1 m de ancho x 3.5 m de largo x 3 m de alto cada una, en un invernáculo de plástico. Por su ubicación en el invernáculo, cada batea fue considerada un bloque. Las plantas crecieron en adecuadas condiciones hídricas y de N, P (urea y fosfato diamónico equivalentes a 100 y 20 kg/ha, respectivamente).

Cada batea se subdividió en dos y se aplicaron al azar por 33 d (24/1 al 26/2/08) dos regímenes de defoliación que difirieron en intensidad (altura de corte: 5 y 12 cm) y frecuencia de corte (cada 7 y 15 d), cuyo objetivo fue lograr plantas que difirieran dos veces en tamaño foliar, que dieron lugar a dos tratamientos: lámina corta (C) y lámina larga (L). Al final de dicho período se realizó un corte de iniciación a 5 cm en el C y a 12 cm en el L y se dejaron crecer por 40 d (27/02/2008 al 07/04/2008). La temperatura media del período de crecimiento fue de $24 \pm 3^\circ\text{C}$ y se consideró 12°C como temperatura base para calcular los grados días de crecimiento acumulados (GDC, $^\circ\text{C}$), según la siguiente fórmula: $((T_{\text{min}} + T_{\text{max}})/2) - 12$.

Durante el período mencionado, se estimó la vida media foliar (VMF) sobre 15 macollos individuales marcados por tratamiento (cinco por repetición). La estimación se realizó considerando el intervalo de tiempo térmico entre la aparición e inicio de senescencia de las láminas de cada macollo. A su vez, se cortaron aproximadamente 200 macollos desde la base, con una frecuencia de 58

± 22 GDC en ambos tratamientos. El período de muestreo abarcó el ciclo de vida completo de tres generaciones sucesivas de hojas (G1, G2, G3), las cuales representan un ciclo normal de rebrote. La G1 correspondió al inicio del rebrote, la G2 a la fase de tasa máxima, y la G3 al momento que se alcanza la producción techo. O sea que en cada generación se muestrearon láminas desde emergencia hasta la presenescencia (ciclo de vida foliar). Así se obtuvieron láminas en seis momentos de la vida foliar: láminas en crecimiento (dos muestreos), láminas recientemente expandidas o con lígula (un muestreo) y láminas adultas (tres muestreos). El material cosechado fue colocado inmediatamente en nitrógeno líquido y luego se conservó en congelador hasta su procesamiento. En el laboratorio, se separaron láminas del macollo principal mediante corte a nivel de lígula de la lámina expandida anterior en el caso de aquellas en crecimiento y a nivel de su lígula en el caso de las láminas adultas. Posteriormente se clasificaron por generación de hoja en las seis categorías de edad mencionadas. En todas las categorías se determinó largo de lámina y largo de vaina, mientras que en las últimas cuatro categorías de láminas se determinaron área (cm^2 , mediante planímetro electrónico Li-Cor modelo Li-3100), peso (g) y variables de calidad del forraje. El largo total de la hoja (mm) se calculó sumando el largo de lámina más el largo de vaina. Mientras que los datos de área y peso de

láminas se utilizaron para determinar el área foliar específica (AFE, cm²/g).

Las cuatro categorías de láminas adultas, correspondientes a cada tratamiento y generación fueron secadas en liofilizador y molidas a 1 mm con un molino Ciclotec Sample Mill 1093. En las mismas se determinó el contenido de FDN en el analizador de fibra ANKOM 200/220 (Van Soest *et al.*, 1991) y el residuo de FDN indigestible (rFDNi) por incubación *in vitro* en el equipo Daisy II (ANKOM) a 24 h de incubación. La FDN indigestible (FDNi) y la digestibilidad aparente de la materia seca (DMS) se calcularon de la siguiente manera:

$$\text{FDNi} = \text{rFDNi} / \text{FDN incubada}.$$

$$\text{DMS} = [1 - (\text{FDNi} / \text{MS incubada})] \cdot 119 \text{ mg/kg} \text{ (Van Soest, 1994).}$$

El diseño estadístico utilizado fue en parcelas divididas en bloques completos al azar ($n = 3$). Se consideró como parcela principal el tamaño foliar ($n = 2$) mientras que las generaciones ($n = 3$) constituyeron las subparcelas. La unidad experimental quedó constituida por bloque \times tamaño foliar \times generación. Los efectos de tamaño foliar y generación se evaluaron mediante ANAVA y las medias se compararon a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5 % ($P < 0.05$). Se ajustaron regresiones lineales entre las variables de calidad y la edad del tejido foliar (expresada en GDC) en cada generación y tamaño foliar. Además, se realizaron regresiones lineales entre FDN, FDNi y DMS con el largo foliar total y el área foliar específica. Se utilizaron procedimientos específicos del software SAS para el análisis estadístico.

Resultados

Vida media foliar

La vida media foliar fue de 369 ± 35 grados días de crecimiento (GDC), no encontrándose diferencias entre tratamientos o generaciones sucesivas. En la Figura 1, se muestra que desde el primero al último muestreo de cada generación de hoja transcurrieron aproximadamente 300 GDC. Ello indica que los muestreos de las tres generaciones de hojas, en ambos tratamientos, se realizaron durante el ciclo de vida foliar de la especie y previo a la senescencia de la lámina.

Características estructurales: Largo foliar y Área foliar específica

El efecto de interacción tratamiento \times generación sobre el largo foliar total (largo de lámina y vaina, luego de la aparición de la lígula) fue significativo. En el tratamiento L, el largo foliar fue similar entre generaciones sucesivas, siendo el valor promedio de 885 ± 17 mm. En el tratamiento C, el largo promedio fue de 606 ± 18 , pero se detectó un incremento en el largo de las generaciones sucesivas, existiendo una diferencia entre la G1 y G3 del orden del 22% (Figura 1).

El área foliar específica (AFE, cm²/g) también fue significativamente afectada por la interacción tratamiento \times generación. En el tratamiento C, las láminas de las G2 y G3 presentaron similar AFE entre ellas y menor que la G1. En el tratamiento L, las láminas de las generaciones sucesivas presentaron similar AFE. En todas las generaciones, el tratamiento C presentó mayor AFE que el tratamiento L (Tabla 1).

Calidad nutritiva: Efecto de la reducción del largo foliar

La interacción tratamiento \times generación tuvo un efecto significativo sobre los contenidos de FDN y FDNi, pero no sobre DMS, la cual sí fue afectada por los efectos principales de tratamiento y generación.

En el tratamiento C no hubo diferencias entre generaciones en contenido promedio de FDN (609 ± 13 g/kg MS). Por el contrario, en el tratamiento L, la G1 (613 ± 8 g/kg MS) fue inferior en contenido de FDN que las G2 y G3 que no se diferenciaron entre ellas (630.5 ± 11 g/kg MS) (Tabla 2).

Dentro del tratamiento L no se detectaron diferencias entre generaciones en el contenido promedio de FDNi (547 ± 27 g/kg FDN). Por otra parte, en el tratamiento C, las G1 y G2 fueron similares en FDNi (463 ± 15 g/kg FDN) y ambas menores que la G3 (497 ± 10 g/kg FDN). En todos los casos, el tratamiento L presentó un mayor contenido medio de FDNi con respecto al tratamiento C, variando las diferencias entre 9% a 15% (Tabla 2).

La DMS promedio fue 10% mayor en el tratamiento C (571 ± 15 g/kg MS) con respecto al tratamiento L (517 ± 22 g/kg MS). La G3 (C: 557 ± 8 y L: 510 ± 10) presentó menor DMS que la G1 (C: 582 ± 10 y L: 525 ± 25), mientras que la G2 (C: 575 ± 14 y L: 515 ± 28) tuvo un valor intermedio entre las otras dos generaciones.

Efecto del envejecimiento

El envejecimiento no afectó el contenido de FDN en ambos tratamientos (C: $y = 0.09x + 584$, R^2

= 0.29; L: $y = 0.02x + 623$, $R^2 = 0.00$), pues este se mantuvo constante desde la expansión total de la hoja hasta el momento previo a la senescencia en las tres generaciones.

En el tratamiento C el envejecimiento no afectó ni el contenido de FDNi ni la DMS en ninguna de las generaciones (Figuras 2 y 3).

En el tratamiento L, la FDNi de las G1 y G2 se incrementó a tasas similares (0.29 y 0.26, respectivamente) con el envejecimiento, mientras que la DMS disminuyó en dichas generaciones con tasas de -0.22 y -0.20 (Tabla 3). El incremento o disminución de la FDNi o DMS en las

mencionadas generaciones fue de un 8% y 6%, respectivamente. En la G3, la FDNi y la DMS se mantuvieron relativamente estables durante el envejecimiento (Figura 2 y 3).

Efecto de las variables estructurales

La Figura 4 muestra que el largo foliar explicó en mayor proporción ($R^2 = 0.62$) la variación registrada en FDNi que el AFE ($R^2 = 0.53$). En cambio, ambas variables explicaron en proporción similar ($R^2 = 0.45$) los cambios en DMS (Figura 5). Por otro lado el contenido de FDN no estuvo relacionado con el largo foliar ni el AFE (Figura 6).

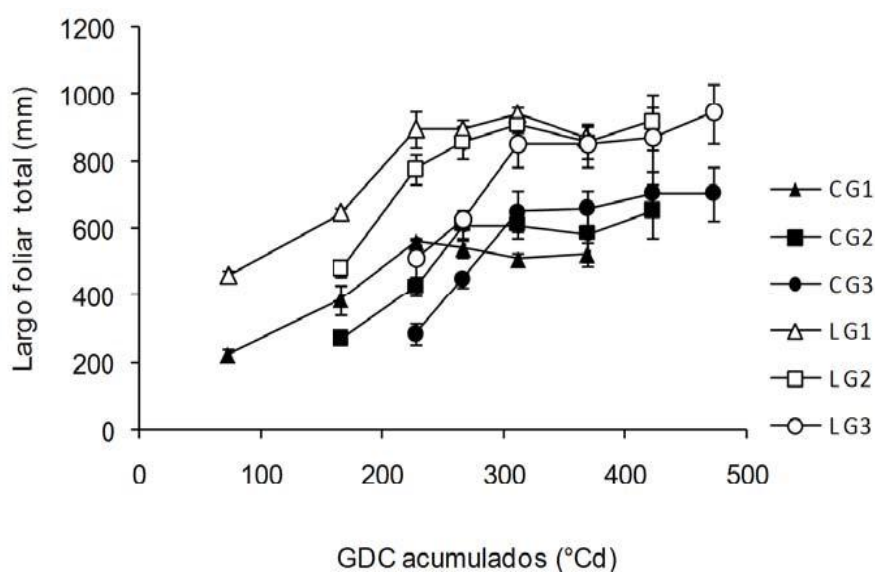


Figura 1. Relación del largo foliar total (mm) y la edad (en grados días de crecimiento, GDC) durante el ciclo de vida de tres generaciones sucesivas de hojas (G1=generación 1, G2=generación 2 y G3= generación 3) correspondiente a los tratamientos lámina corta (C) y larga (L). Las barras indican el error estándar.

Tabla 1. Media \pm EE de área foliar específica (AFE, $\text{cm}^2/\text{g MS}$) de láminas adultas de tres generaciones sucesivas de hojas (G1 = generación 1, G2 = generación 2 y G3 = generación 3) correspondientes a los tratamientos de lámina corta y lámina larga

Tratamiento	Generación de hoja		
	G1	G2	G3
Lámina corta	$112 \pm 5^{\text{aA}}$	$100 \pm 12^{\text{bA}}$	$95 \pm 5^{\text{bA}}$
Lámina larga	$79 \pm 8^{\text{aB}}$	$83 \pm 9^{\text{aB}}$	$86 \pm 6^{\text{aB}}$

A, a, B, b Letras minúsculas distintas en una fila dentro de cada tratamiento denotan diferencias ($P < 0.05$) entre generaciones y mayúsculas distintas en una columna dentro de cada generación diferencias entre tratamientos.

Tabla 2. Media \pm DE de FDN (g/kg MS) y FDNi (g/kg FDN) de tres generaciones de hojas en los tratamientos de láminas cortas (C) y largas (L) de *C. gayana* cv. Finecut.

Variable	Tratamiento	Generación de hoja		
		G1	G2	G3
FDN	C	612 \pm 11 ^{aA}	610 \pm 12 ^{aB}	605 \pm 16 ^{aB}
	L	613 \pm 8 ^{bA}	631 \pm 13 ^{aA}	630 \pm 9 ^{aA}
FDNi	C	461 \pm 13 ^{bB}	465 \pm 16 ^{bB}	497 \pm 10 ^{aB}
	L	548 \pm 34 ^{aA}	543 \pm 32 ^{aA}	551 \pm 14 ^{aA}

^{A, a, B, b} Letras minúsculas distintas en una fila dentro de cada tratamiento denotan diferencias ($P < 0.05$) entre generaciones y mayúsculas distintas en una columna dentro de cada generación diferencias entre tratamientos.

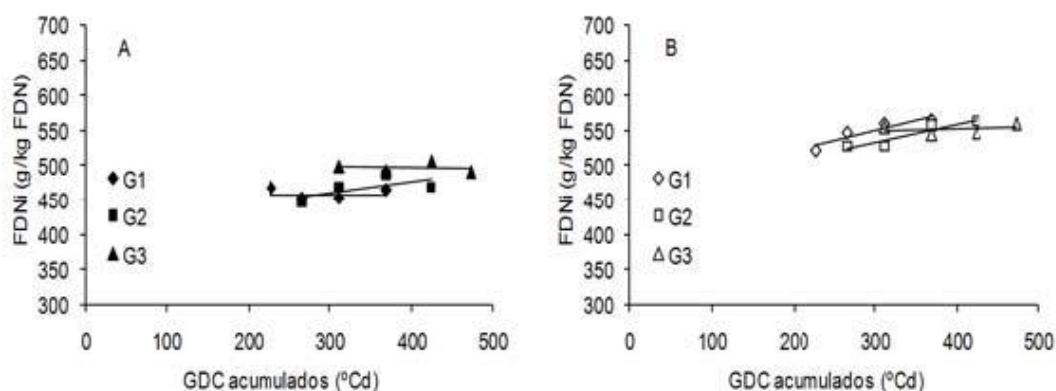


Figura 2. Relación entre el contenido de FDNi (g/kg) con la edad foliar (en grados días de crecimiento, GDC) en tres generaciones sucesivas de hojas del tratamiento de láminas cortas (Figura 2A) y largas (Figura 2B). Ecuaciones en la Tabla 3.

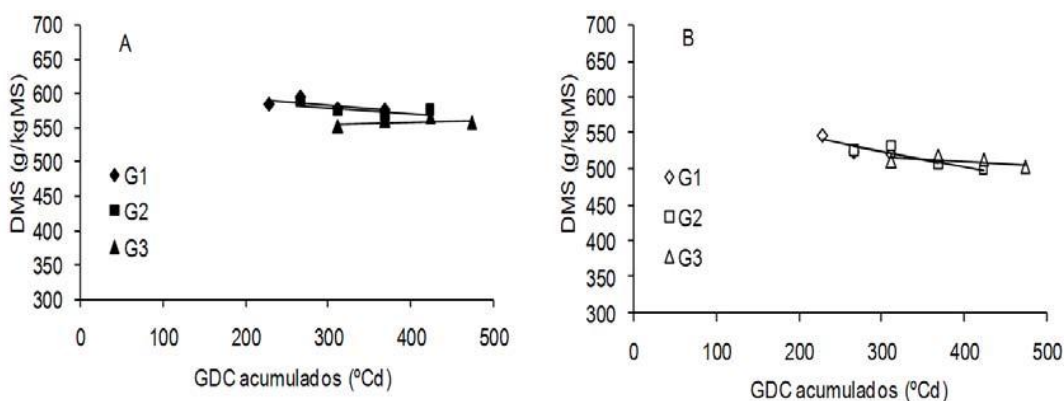


Figura 3. Relación entre digestibilidad aparente *in vitro* de materia seca (DMS, g/kg) con la edad foliar (en grados días de crecimiento, GDC) en tres generaciones sucesivas de hojas del tratamiento de láminas cortas (Figura 3A) y largas (Figura 3B). Ecuaciones en Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de regresión lineal entre FDNi y DMS con la edad foliar (en grados días de crecimiento, GDC) en tres generaciones de hojas en los tratamientos de láminas cortas y largas

	Generación de hojas	Parámetros			
		Intercepto	Pendiente	R ²	Significancia del modelo (#)
FDNi L. cortas	G1	459	-0.00	0.00	ns
	G2	415	0.15	0.38	ns
	G3	504	-0.02	0.04	ns
FDNi L. largas	G1	462	0.29	0.84	*
	G2	453	0.26	0.89	*
	G3	539	0.03	0.09	ns
DMS L. cortas	G1	608	-0.09	0.38	ns
	G2	604	-0.09	0.39	ns
	G3	541	0.04	0.23	ns
DMS L. largas	G1	590	-0.22	0.83	*
	G2	585	-0.20	0.79	*
	G3	531	-0.05	0.31	ns

(#): * P ≤ 0.05; ns P > 0.05

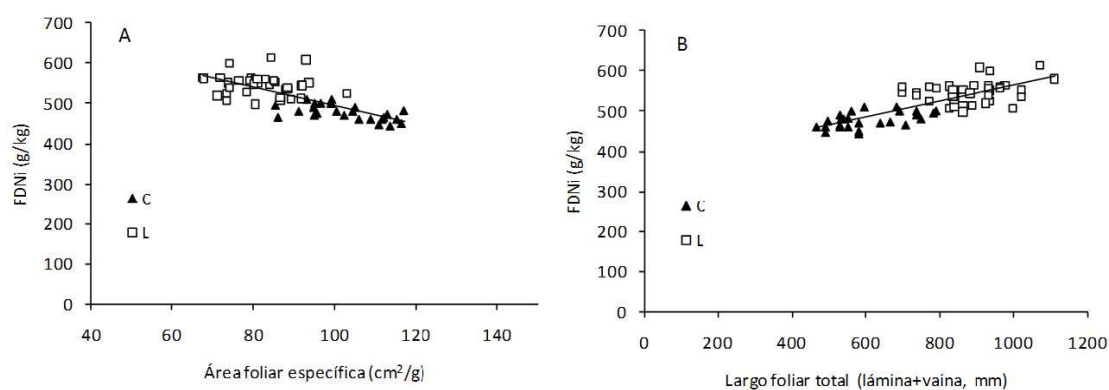


Figura 4. Relación entre FDNi-área foliar específica (Figura 4A) y entre FDNi-largo foliar (Figura 4B).

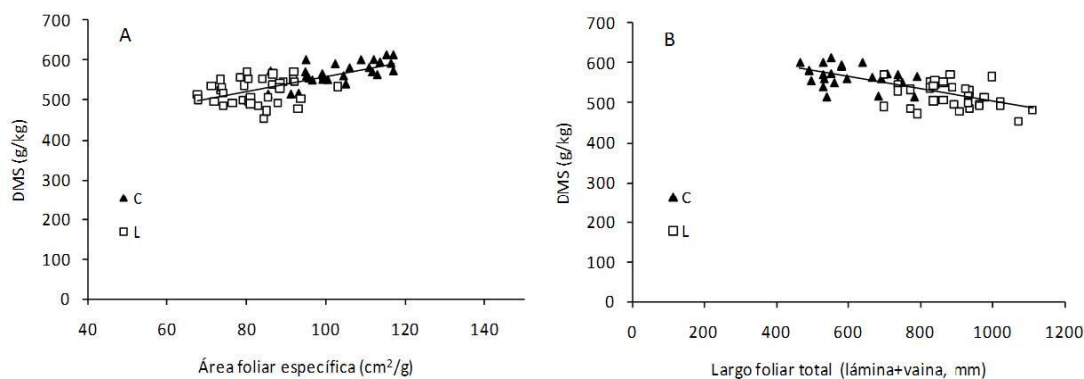
A: $y = -2.32x + 728.1$, $R^2 = 0.54$. B: $y = 0.19x + 367.6$, $R^2 = 0.62$ 

Figura 5. Relación entre DMS y área foliar específica (Figura 5A) y entre DMS y largo foliar (Figura 5B).

A: $y = 1.88x + 370.9$, $R^2 = 0.45$. B: $y = -0.15x + 655.5$, $R^2 = 0.47$.

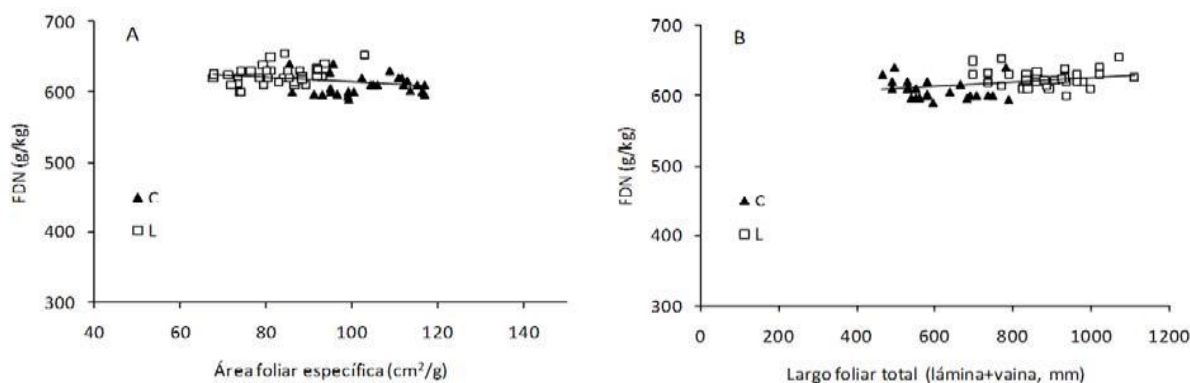


Figura 6. Relación entre FDN-área foliar específica (Figura 6A) y entre FDN-largo foliar (Figura 6B) en muestras correspondientes al tratamiento lámina corta (C) y lámina larga (L). A: $y = -0.30x + 645.3$, $R^2 = 0.07$. B: $y = 0.03x + 593.9$, $R^2 = 0.12$.

Discusión

Modificaciones estructurales

Las pasturas de *C. gayana*, creciendo en invernáculo, mostraron plasticidad en su respuesta a la defoliación. La micropastura manejada con una defoliación más intensa mostró, en el siguiente ciclo de rebrote, una reducción del largo total de la hoja adulta de un 32%. Ello se puede atribuir a que la defoliación redujo el largo del tubo de vainas, que tiene un efecto morfogénico directo sobre el largo de las láminas siguiente (Wilson y Laidlaw, 1985). Es decir a menor longitud de vaina menor longitud de la futura lámina adulta. Si bien se logró diferenciar ambos tratamientos, la magnitud de la diferencia en el largo promedio de las hojas fue menor a la esperada. Ello puede deberse a que se alargó el ápice vegetativo, dando como resultado una lámina más corta. Esta es una característica de la mayoría de las especies megatérmicas en estado vegetativo (Sbrissia y Da Silva, 2001), que no ha sido descrita en especies templadas (Chapman y Lemaire, 1993).

La reducción del largo foliar fue acompañada de diferencias en otra característica estructural de la pastura como el área foliar específica (AFE). Las láminas del tratamiento C presentaron mayor AFE que las del L, siendo la diferencia del orden del 20%, lo que concuerda con lo observado en otras especies por Groot *et al.* (1999), Cullen *et al.* (2006) y Lattanzi *et al.* (2004) en plantas defoliadas.

La diferencia en AFE entre plantas con diferente tamaño de hojas podría estar explicada por respuestas de tipo fotomorfogenéticas e hidrodinámicas. El incremento en altura de las plantas, en condiciones

de cubierta densa y disponibilidad lumínica limitante, como estrategia para ubicar las hojas en condiciones apropiadas para la función fotosintética, trae aparejado una mayor inversión de biomasa en tejidos de sostén (Givish, 1982 citado por Werger *et al.*, 2002). También, el aumento de la altura de las plantas da lugar a la ramificación y afinamiento de los haces de conducción, que ocasiona el aumento en la proporción del tejido de conducción. Así se forma una estructura que permitiría la constancia en el flujo de transporte de agua aún en los puntos más distantes (West *et al.*, 1997). La disminución del AFE, con el incremento del largo foliar coincide con lo observado por Maurice *et al.* (1997), quienes señalaron que el aumento de longitud de la hoja es acompañado por un aumento en la densidad de MS por unidad de volumen o peso específico (inversa del AFE). Wilson y Mertens (1995) interpretan esta asociación como indicador de un mayor empaquetamiento de las paredes celulares que dificultaría el ataque microbiano. Por lo tanto, el resultado final de todo este cambio estructural es una fibra más resistente al ataque de los microorganismos ruminales.

La disminución del AFE (Tabla 1) observada entre generaciones sucesivas en el tratamiento C, la cual concuerda con los resultados obtenidos por otros autores en raigrás anual (Groot y Neuteboom, 1997; Groot *et al.*, 1999), estuvo asociada al aumento en el largo foliar registrado entre las mismas (Figura 1). Esta variación del AFE con el incremento del largo foliar coincide con el efecto de tratamiento discutido en el párrafo

precedente. En el tratamiento L, el largo total de las hojas fue similar (Figura 1), lo cual explicaría la relativa estabilidad en los valores de AFE registrada en este tratamiento.

Morfología y calidad la fibra

En concordancia con los cambios estructurales en la micropastura del tratamiento C (hojas más cortas, mayor área foliar específica o un menor peso por unidad de área), las láminas de esta pastura tuvieron una fibra con menos proporción de FDNi. En estas láminas, la FDNi disminuyó un 12% promedio sin grandes modificaciones en el contenido de FDN. Es decir, los cambios morfológicos ocasionados por la defoliación afectaron la digestibilidad de la fibra pero no su contenido. La magnitud de dicha reducción fue menor que la encontrada en un trabajo previo en el cual se compararon láminas de dos gramíneas megatérmicas de diferente largo foliar (Ávila *et al.*, 2010). En aquel caso se encontró una reducción de 11% en la FDN y de 24% en la FDNi, pero la diferencia en largo foliar fue mayor que en el presente experimento (58% vs 32%). En definitiva, los resultados resaltan la importancia del largo foliar como determinante de la digestibilidad, tal como ha sido señalado en el trabajo mencionado. Duru *et al.* (1999) y Duru y Ducroq (2002) también comentan que las características morfogenéticas y estructurales de las gramíneas, entre ellas el tamaño de las hojas, estarían estrechamente vinculadas a la calidad del forraje. Sin embargo, estos autores, atribuyen los cambios de digestibilidad asociada al largo foliar, no a la longitud de la lámina per se, sino a la mayor edad de la misma, al pasar más tiempo aumentando su longitud dentro de una vaina más larga, en comparación con aquellas que se desarrollan dentro de vainas cortas.

Envejecimiento y calidad de fibra

El contenido de FDN no fue afectado por el proceso de envejecimiento en ambos tratamientos. En cambio, la FDNi aumentó levemente en el tratamiento L y se mantuvo constante en el C (Figura 2).

En el tratamiento L el incremento de FDNi después de la aparición de la lígula observado en las láminas de las G1 y G2 corrobora los resultados encontrados en raigrás anual por Groot y Neuteboom (1997) y en esta misma especie estudiada en condiciones similares de manejo por Agnusdei *et al.* (2009). La constancia de la FDNi observada en la G3 también es consistente con lo observado por Groot y Neuteboom (1997) y Duru y Ducroq (2002), e indica que al momento de emerger las láminas ya habían alcanzado el techo de FDNi.

Al respecto, los autores mencionados sugieren que el incremento progresivo de la longitud de las vainas durante el rebrote prolonga el tiempo en que las láminas crecen dentro del tubo, y de esta forma las hojas tienen mayor grado de envejecimiento al momento de emerger. En cambio, y contrariamente a lo observado en el tratamiento L, en el C no se observó aumento de la FDNi a partir del momento en que las láminas alcanzaron la longitud máxima en ninguna de las tres generaciones. Ello sugiere que el patrón de incremento de FDNi con el envejecimiento foliar podría verse acentuado con el aumento de la altura de la pastura.

Digestibilidad de la MS

En un trabajo previo (Ávila *et al.*, 2010) se analizó la asociación entre la digestibilidad aparente de la MS (DMS) y FDN indigestible (FDNi), en dos especies de tamaño contrastante. En el presente experimento el mismo análisis se realiza sobre una micropastura en la que se redujo la longitud de la lámina adulta por defoliación. Los cambios morfológicos ocasionados por la defoliación disminuyeron la FDNi un 13%, pero mejoraron la DMS por aproximadamente 10% (L: 517 ± 22 vs C: 571 ± 15 g/kgMS).

Los cambios observados en DMS con el envejecimiento en ambos tratamientos, estuvieron en concordancia con las variaciones registradas en FDNi. En el tratamiento C la DMS mostró una relativa estabilidad con el envejecimiento y en el tratamiento L disminuyó un 6% (Figura 3). Estos resultados indican que la digestibilidad de la pared celular es el factor determinante de los cambios en DMS, tal como ha sido señalado por Groot y Neuteboom (1997).

El incremento del largo foliar (Figura 5) estuvo más asociado ($R^2 = 0.45\%$) a la disminución de la DMS que el envejecimiento, en concordancia con el efecto que tuvo este factor en la FDNi. Los valores de digestibilidad encontrados en este experimento son menores a los observados en esta especie por Nasca (2006), que obtuvieron valores de digestibilidad *in vitro* de MS para *C. gayana* cv. Finecut en estado vegetativo de 599 g/kg. Las diferencias entre experimentos podrían deberse, al menos en parte, a que en ambos casos se utilizaron diferentes metodologías para medir la digestibilidad *in vitro* (Ávila *et al.*, 2010).

En síntesis, la defoliación indujo modificaciones estructurales en la pastura que tienen efectos directos e indirectos en la calidad nutritiva. El primero es que produce láminas adultas más cortas, con mayor área foliar específica. Esto último sugiere una estructura fibrosa menos compacta, y por lo tanto, más

susceptible al ataque de los microbios ruminales. En consecuencia de ello, las láminas adultas de menor longitud tienen mayor digestibilidad de la FDN y MS. El efecto indirecto se refiere a que la calidad nutritiva de las láminas de la micropastura de menor altura, no parece ser afectada por el envejecimiento, lo cual representa una ventaja adicional del manejo de la defoliación.

La alta asociación entre largo foliar y calidad nutritiva indican que por cada 5 cm de disminución del largo de las hojas, disminuye la FDNi y aumenta la DMS en aproximadamente 1 unidad. Entonces el manejo de la altura de la pastura podría tener un importante efecto en su calidad, especialmente en especies megatérmicas de alto porte.

Conclusiones

El manejo de defoliación aplicado permitió reducir el tamaño promedio potencial de las láminas de *C. gayana* en un 32%, alcanzándose el objetivo de obtener tipos morfológicos contrastantes en longitud de hojas, lo cual muestra la plasticidad de esta especie frente al manejo de la defoliación. En paralelo con la reducción del largo foliar disminuyó el área y peso de las láminas y aumentó el área foliar específica (AFE). Asociados a estos cambios estructurales, también se encontró que las láminas de menor tamaño tuvieron menor contenido de FDNi y mayor DMS. Por otro lado, se constató que el proceso de envejecimiento afectó los parámetros en estudio solamente en las hojas

de mayor tamaño. En este caso hubo un aumento de la FDNi y una disminución de la DMS desde la aparición de la lígula hasta el comienzo de senescencia. La falta de evidencias de envejecimiento en las plantas de hojas cortas muestra un efecto secundario deseable de la reducción del tamaño foliar sobre la calidad nutritiva del forraje. En general, la caída de la calidad nutritiva de hojas adultas, resultado del proceso de envejecimiento, fue de menor magnitud que aquella ocasionado por el efecto del largo foliar. Los resultados destacan la importancia del manejo del tamaño foliar para controlar las variaciones de la calidad nutritiva de la pastura.

Literatura Citada

- Agnusdei, M. G., F. R. Nenning, O. N. Di Marco y M. S. Aello. 2009. Variaciones de calidad nutritiva durante el crecimiento vegetativo de gramíneas megatérmicas de diferente porte y longitud foliar (*Chloris gayana* y *Digitaria decumbens*). Rev. Arg. Prod. Anim. 29: 13-25.
- Akin, D. E. and A. Chesson. 1989. Lignifications as the major factor limiting forage feeding value especially in warm conditions. XVI International Grassland Congress, Nice. France. pp. 1753-1759.
- Arredondo, J. T. and H. Schnyder. 2003. Components of leaf elongation rate and their relationship to specific leaf area in contrasting grasses. New Phytologist 158:305-314.
- Avila, R. E., O. N. Di Marco, M. G. Agnusdei y C. Mayoral. 2010. Digestibilidad de la fibra y materia seca de dos gramíneas megatérmicas (*Chloris gayana* y *Cenchrus ciliaris*) de diferente porte. Relación con la edad y largo foliar. Rev. Arg. Prod. Anim. 30: 1-13.
- Casey, I. A., A. J. Brereton, A. S. Laidlaw and D. A. McGiloway. 1999. Effects of sheath tube length on leaf development in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Ann. Appl. Biol. 134:251-257.
- Chapman, D. F. and G. Lemaire. 1993. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: Baker, M. J. (Ed.) Grasslands for our world. Sir, Wellington. pp. 55-64.
- Cullen, B. R., D. F. Chapman, and P. E. Quigley. 2006. Comparative defoliation tolerance of temperate perennial grasses. Grass Forage Sci. 61:405-412.
- Duru, M. and H. Ducrocq. 2000. Growth and senescence of the successive leaves on a cocksfoot tiller. Effect of nitrogen and cutting regime. Ann. Bot. 85: 645-653.
- Duru, M. and H. Ducrocq. 2002. A model of lamina digestibility of orchard grass as influenced by nitrogen and defoliation. Crop Sci. 42: 214-223.
- Duru, M., E. Feuillerac, and H. Ducrocq. 1999. *In vitro* digestibility response of Cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) to growth and defoliation: a simple model. J. Agric. Sci. 133: 379-388.
- Engels, F. M. and J. L. L. Schuurmans. 1992. Relationship between structural development

- of cell wall and degradation of tissue in the maize stem. *J. Sci. Food Agric.* 59:45-51.
- Givnish, T.J. 1982. On the adaptive significance of leaf height in forest herbs. *Am. Nat.* 120:353-381.
- Grabber, J. H. 2005. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. *Crop. Sci.* 45:820-831.
- Groot, J. C. and J. H. Neuteboom. 1997. Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion the same levels. *J. Sci. Food Agric.* 75:227-236.
- Groot, J. C., J. H. Neuteboom, and B. Deinum. 1999. Composition and digestibility during ageing of consecutive leaves on the main stem of Italian ryegrass plants, growing undisturbed or regrowing after cutting. *J. Sci. Food. Agric.* 79:1691-1697.
- Kavanová, M., A. A. Grimoldi, F. A. Lattanzi, and H. Schnyder. 2006. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics. *Plant, Cell Environ.* 29: 511-520.
- Lattanzi, F. A., H. Schnyder, and B. Thornton. 2004. Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. *Plant, Cell Environ.* 27:347-356.
- Lemaire, G. and D. Chapman. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In: Hodgson, J.; Illius, A. W. (Eds.) *The ecology and management of grazing system.* CAB International. pp. 3-36.
- Maurice, I., F. Gastal, and J. L. Durand. 1997. Generation of form and associated mass deposition during leaf development in grasses: a kinematic approach for non-steady growth. *Ann. Bot.* 80: 673-683.
- Nasca, J. 2006. Producción sostenible de carne bovina con pasturas tropicales en la Llanura Deprimida Salina de Tucumán. Tesis M. S. Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Agronomía y Zootecnia. 138 p.
- Pascuet, M. L. 2003. Dinámica del pastoreo de bovinos sobre pasturas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) mantenidas a diferentes alturas en primavera y otoño. Tesis M.S. Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Unidad integrada Balcarce Argentina. 83 p.
- Sbrissia, A., e S. C. Da Silva. 2001. O ecossistema de pastagem a produção animal. 38º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba. pp.731-754.
- Skinner, R. H. and C. J. Nelson. 1995. Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. *Crop Sci.* 35:4-10.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. (2nd Ed.) Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.
- Werger, M., T. Hirose, H. During, G. Heil, K. Hikosaka, T. Ito, U. Nachinshonhor, D. Nagamatsu, K. Shibasaki, S. Takatsuki, J. Van Rheenen, and N. Anten. 2002. Light partitioning among species and species replacement in early successional grasslands. *J. Veg. Sci.* 13:615-626.
- West, G., J. Brown, and B. Enquist. 1997. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* 276:122-126.
- Wilson, J. R. 1976. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition and quality. *Aust. J. Agric. Res.* 27: 343-354.
- Wilson, J. R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. Agric. Sci. Camb.* 122:173-182.
- Wilson, J. R. and D. R. Mertens. 1995. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. *Crop Sci.* 35:251-259.
- Wilson, R. E. and A. S. Laidlaw. 1985. The role of the sheath tube in the development of expanding leaves in perennial ryegrass. *Ann. Appl. Biol.* 106: 385-391.